

Universitat de Lleida
Escola Tècnica Superior
d'Enginyeria Agrària

Universitat de Lleida

Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Agrària

Doble Grau de Veterinària i producció animal

TRABAJO DE FINAL DE GRADO

Características clinicopatológicas e inmunohistoquímicas de los
Mesoteliomas de túnica vaginal testicular en perros (1995-2017)

Alumno:

Gemma Samitier Parera

Tutor:

Prof. Gustavo Adolfo Ramírez Rivero, Departament de Ciència animal.

Lleida, 19 de septiembre de 2018

Resumen

La túnica vaginalis testis es una extensión del peritoneo normalmente forrada por una única capa de células mesoteliales. Los mesoteliomas de la túnica vaginalis testis (MTV) son extremadamente extraños (representan del 0,3% al 5% de todos los mesoteliomas malignos). En los perros, solamente se han descrito dos casos que muestran un comportamiento agresivo y resultados desfavorables. Estos tumores surgen de la membrana serosa de la túnica vaginalis y tienen un origen mesenquimal. El examen macroscópico de los mesoteliomas testiculares revela típicamente nódulos tumorales que afectan a la túnica vaginalis y, en algunos casos, se infiltran en el parénquima testicular, provocando retos diagnósticos.

El objetivo de este trabajo es describir las características clínicas, histológicas e inmunohistoquímicas (IHQ), así como el resultado clínico de estas neoplasias mediante la obtención de 13 muestras de perros con este tumor y sus historias clínicas. Todas las muestras se obtuvieron del Laboratorio de Histopatología Veterinaria Histovet entre 1995 y 2017. Los diagnósticos histológicos se confirmaron mediante una revisión de las muestras de los animales fijadas en parafina. La tinción inmunohistoquímica se realizó con un panel de anticuerpos que incluyen citoqueratinas (Cks), vimentina (Vim) y antígeno carcinoembrionario (CEA).

Los resultados mostraron una abundante efusión que rodea los testículos afectados (hidrocele). En el examen macroscópico se reveló un tumor firme, generalmente amarillo a blanco, con superficie sólida y una túnica vaginal engrosada con nódulos de tamaño variable. La invasión del epidídimo o del cordón espermático fue observada comúnmente. Microscópicamente, el 76,9% de los tumores presentaban características epiteliales con patrones papilares, tubulopapilares o sólidos. Uno de los casos presentó un patrón sarcomatoide (7,7%), caracterizado por elementos de morfología predominantemente alargada-fusiforme, con núcleos atípicos, alargados a ovalados, y frecuentemente de contorno irregular. Dos de los casos presentaron un tipo histológico mixto (15,4%), compuesto por una combinación de células con los rasgos morfológicos de tipo epitelial y sarcomatoso. En la IHQ, citoqueratinas y vimentina fueron expresadas intensamente. Se detectó metástasis en el 87,5% de los casos en un período de menos de 7 meses tras el tratamiento.

El MTV en el perro es una neoplasia maligna rara con un comportamiento agresivo y un resultado desfavorable, que debe ser relacionado con la aparición de hidroceles. Su perfil IHQ es positivo para Cks y Vim y negativo para CEA y citoqueratina 20 (CK20).

Palabras Clave: túnica vaginalis; mesotelioma; histología; Inmunohistoquímica; perros.

Abstract

Tunica vaginalis testis is an extension of the peritoneum lined by a single layer of mesothelial cells. Mesotheliomas of the tunica vaginalis testis (MTV) are extremely rare (between 0,3% al 5% of all malignant mesotheliomas). These tumors arise from the serous membrane of the tunica vaginalis and have a mesenchymal origin. In dogs, only two cases have been described with an aggressive behavior and unfavorable outcome. The gross examination of testicular mesotheliomas typically reveals tumor nodules that affects the tunica vaginalis and, in some cases, infiltrate the testicular parenchyma, causing diagnostic challenges.

The objective of this study is to describe the clinical, histological and immunohistochemical characteristics (IHC), as well as the clinical result of these neoplasms, which are infrequent in the dog, by obtaining samples from 13 dogs with this tumor and their clinical cases. All samples were obtained from the Histovet Veterinary Histopathology Laboratory between 1995 and 2017. Histologic diagnoses were confirmed by re-review of paraffin-embedded specimens. Immunohistochemical staining was also performed with a panel of antibodies including cytokeratins (Cks), vimentin (Vim) and carcinoembryonic antigen (CEA).

Results revealed an effusion surrounding the affected testicles (hydrocele). Gross examination often showed a firm, usually yellow to white tumor with a solid or cystic-cut surface. The tunica vaginalis was usually thickened with nodules of varying size. Invasion of epididymis or spermatic cord was commonly seen. Microscopically, 76,9% of tumors presented epithelial features with papillary, tubulopapillary, or solid patterns. One of the cases presented sarcomatoid (7,7%), characterized by elements of predominantly elongated fusiform morphology, with atypical nuclei, elongated to oval, and frequent irregular contour. Two of the cases presented a mixed histological type (15.4%), composed of a combination of cells with the morphological features of epithelial and sarcomatous type. In IHC consistently expressed cytokeratins and vimentin. Metastasis was detected in 87.5% of the cases in a period of less than 7 months after treatment.

MTV in the dog is a rare malignant neoplasm with an aggressive behavior and poor outcome, which should not be overlooked when dealing with hydroceles. The IHQ profile is positive for Cks and Vim and negative for CEA and cytokeratin 20 (CK20).

Keywords: tunica vaginalis; mesothelioma; histology; Immunohistochemistry; dogs.

Resum

La túnica vaginalis testis es una extensió del peritoneu normalment folrada per una única capa de cèl·lules mesotelials. Els mesoteliomas de la túnica vaginalis testis (MTV) son extremadament estranys (representen del 0,3% al 5% de tots los mesoteliomas malignes). En els gossos, només s'han descrit 4 casos que mostren un comportament agressiu i resultats desfavorables. Aquets tumors sorgeixen de la membrana serosa de la túnica vaginalis i tenen un origen mesenquimal. L'examen macroscòpic dels mesoteliomes testiculars revela típicament nòduls tumorals que afecten la túnica vaginalis espessa i, en alguns cassos, s'infiltren en el parènquima testicular, provocant reptes diagnòstics.

El objectiu d'aquest treball es descriure les característiques clíniques, histològiques i immunohistoquímiques (IHQ), així como el resultat clínic d'aquesta neoplàsia mitjançant la obtenció de 13 mostres de gossos amb aquest tumor i les seves històries clíniques. Totes les mostres es van obtenir del Laboratori d'Histopatologia Veterinària Histovet entre el 1995 i el 2017. Els diagnòstics es van confirmar mitjançant la revisió de les mostres dels animals fixades en parafina. Aquestes també es van estudiar amb immunohistoquímica utilitzant anticossos de citoqueratines (Cks), vimentina (Vim) i antigen carcinoembrionari (CEA).

Els resultats van mostrar una abundant efusió que envoltava els testicles afectats (hidrocele). A l'examen macroscòpic es va revelar un tumor ferm, generalment de groguenc a blanquinós amb superfície sòlida i una túnica vaginal engrossida amb nòduls de mida variable. La invasió de l'epidídim o del cordó espermàtic va ser observada freqüentment. Microscòpicament, el 76,9% dels tumors presentaven característiques epitelials amb patrons papil·lars, tubulopapilars o sòlids. Un dels casos va presentar un patró sarcomatós (7,7%), caracteritzat per elements de morfologia predominantment allargada-fusiforme, amb nuclis atípics, allargats-ovalats, i freqüentment de contorn irregular. Dos dels casos van presentar un tipus histològic mixt (15,4%), compost per una combinació de cèl·lules amb els trets morfològics de tipus epitelial i sarcomatós. A la IHQ, citoqueratines i vimentina van ser expressades fortament. Es va detectar metàstasi en el 87,5% dels casos en un període de menys de 7 mesos després del tractament.

El MTV en el gos és una neoplàsia maligna rara amb un comportament agressiu amb resultat desfavorable, que ha de ser relacionat amb l'aparició d' hidroceles. El seu perfil IHQ és positiu per a Cks i Vim i negatiu per a CEA i citoqueratina 20 (CK20).

Paraules Clau: túnica vaginalis; mesotelioma; histologia; Immunohistoquímica; gossos.

Tabla de contenidos

Introducción	6
Mesotelio: estructura y función	6
Mesotelioma: antecedentes y estado actual	7
Mesotelioma de la túnica vaginal testicular (MTV).....	9
Descripción de casos en veterinaria	9
Diagnóstico diferencial del MTV.....	11
Objetivos	12
Material y métodos	13
Selección de casos	13
Preparación de tejidos	13
Inmunohistoquímica	13
Resultados	15
Hallazgos clínicos.....	15
Características macroscópicas.....	17
Características microscópicas.....	19
Características inmunohistoquímicas (IHQ)	23
Discusión	25
Conclusiones	29
Bibliografía	30

Introducción

Las enfermedades neoplásicas son de gran preocupación para los dueños de mascotas porque desconocen su etiología, las lesiones que las caracterizan, las causas que la producen o el tratamiento. En Medicina Veterinaria se están realizando muchos avances científicos en el tratamiento de las diferentes patologías neoplásicas que se presentan en los caninos, con el único propósito de mejorar la calidad de vida de las mascotas por su condición de animales de compañía.

Los tumores o neoplasias son proliferaciones anormales de los tejidos sanos que se inician de manera aparentemente espontánea (no se conoce en muchos casos la causa desencadenante), de crecimiento progresivo, sin capacidad de llegar a un límite definido, carente de finalidad y regulado por leyes propias más o menos independientes del organismo. Este es un aumento anormal y sin control (anarquía celular) de un tejido, cuyo crecimiento excede y no está coordinado con el crecimiento de los tejidos normales y continúa creciendo tras el cese de los estímulos que lo provocaron debido a diversas alteraciones genéticas subyacentes.

A fin de facilitar la identificación de los tumores por parte de los clínicos veterinarios es indispensable la realización y elaboración de detalladas y fiables descripciones morfológicas, destacando aquellos aspectos macroscópicos y microscópicos que pueden ser detectados en su inicio y, en consecuencia, permitir la elección de un tratamiento adecuado.

El mesotelioma es una neoplasia que se origina a partir de las células epiteliales que cubren las superficies serosas. Es una neoplasia poco frecuente en perros y gatos. Normalmente se presenta como masas nodulares afectando a la pleura, pericardio o peritoneo. El mesotelioma maligno primario de la túnica vaginal testicular es una variante extremadamente rara en humanos y especies domésticas, descrita muy ocasionalmente y escasamente caracterizada (Martínez & Torrent, 2006).

El presente estudio describe las características clinicopatológicas e inmunohistoquímicas de los mesoteliomas de la túnica vaginal testicular en la especie canina

Mesotelio: estructura y función

El mesotelio es la cubierta protectora que cubre la mayor parte de los órganos internos y cavidades corporales. Deriva del mesodermo embrionario y está formado de tejido conectivo sobre el que descansa una membrana basal que, a su vez, sustenta un epitelio simple, aplanado.

Está compuesto por dos capas de células: una capa se encuentra en contacto íntimo con el órgano, cubriéndolo (*mesotelio visceral*), mientras que la segunda recubre las cavidades orgánicas (*mesotelio parietal*). Las células epiteliales del mesotelio producen un fluido lubricante que permite que ambas capas se deslicen una sobre la otra permitiendo los movimientos de los

órganos que cubren. Según su localización, el mesotelio recibe un nombre particular: el que rodea los pulmones se denomina pleura, el que rodea el corazón se llama pericardio, el que envuelve los testículos se denomina túnica vaginal de los testículos y el que rodea el útero recibe el nombre de túnica serosa uterina (König & Liebich, 2005).

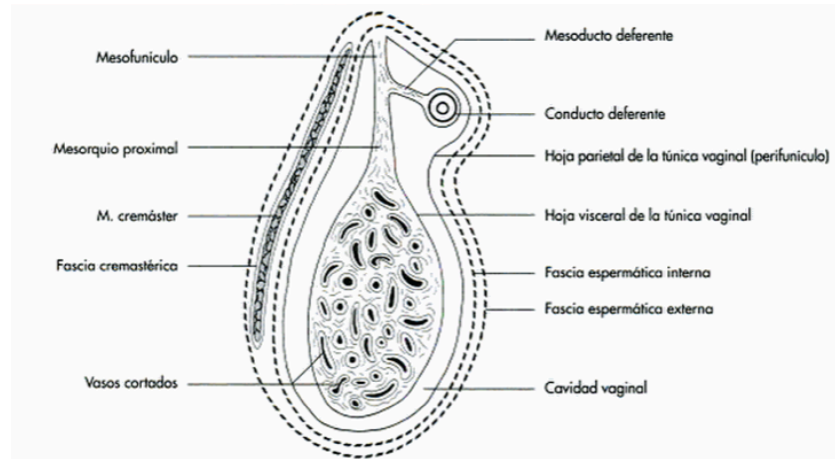


Figura 1: representación esquemática de un corte de la parte con forma de cuello de botella del proceso vaginal con los órganos y fascias próximos (corte transversal). König & Liebich, 2005.

Mesotelioma: antecedentes y estado actual

Los tumores mesoteliales son neoplasias localizadas, multifocales o difusas que se originan de las células que componen el mesotelio de las cavidades celómicas, pleura, peritoneo, pericardio y, ocasionalmente, de la túnica vaginal testicular. Es un tipo de neoplasia poco frecuente y generalmente maligna.

La mayoría de los mesoteliomas en medicina humana surgen de la pleura y representan del 68% al 85% de todos los casos de mesotelioma maligno, mientras que del 9.1% al 24.1% de los mesoteliomas malignos surgen del peritoneo. En raras ocasiones, se originan en la túnica vaginal del testículo, en cuyo caso se manifiestan generalmente como una masa paratesticular (Brimo et al., 2010).

Aunque los mesoteliomas malignos difusos son tumores altamente malignos, existen formas raras que son mucho menos agresivas. Estos incluyen mesoteliomas multiquísticos y mesoteliomas papilares bien diferenciados. Los mesoteliomas papilares bien diferenciados generalmente se presentan en el peritoneo, pero en raras ocasiones se ha informado que afectan a la túnica vaginal del testículo (Brimo et al., 2010).

En medicina humana, la patogenia del mesotelioma maligno (MM) tiene una fuerte relación con la exposición ocupacional al amianto y el hidrocele de larga duración (Plas et al., 1998). Además de esto, el mesotelioma en todas las especies está asociado a la exposición a asbesto, Simian virus 40 (SV 40) y, en algunas ocasiones, a óxido de aluminio (Reggeti et al., 2005). Experimentalmente se han expuesto perros a polvo de asbesto, los cuales han producido

Características clinicopatológicas e inmunohistoquímicas de los Mesoteliomas de túnica vaginal testicular en perros (1995-2017)

adenocarcinoma pulmonar y mesoteliomas extensos (Ochoa & Hernández Arevalo, 2008). De forma natural, también se ha descrito el desarrollo de mesoteliomas pulmonares y placas fibróticas pleurales en perros expuestos al asbesto (Ochoa & Hernández Arevalo, 2008).

En los seres humanos, los MM se han subclasificado clásicamente en 3 grupos sobre la base de características histopatológicas: *el tipo epitelial* (papilar y/o tubular), que se observa con mayor frecuencia en la cavidad peritoneal y la túnica vaginalis testicular; el tipo mesenquimal o sarcomatoide, que se encuentra comúnmente en la cavidad pleural; y el tipo bifásico o mixto, que se produce en las membranas serosas (Plas et al., 1998). El tipo epitelial constituye aproximadamente 60% del total y se subdivide en tubulopapilar, glandular y sólido. Cerca del 25 % y el 15 % son de formas mixtas y formas sarcomatosas, respectivamente (Aponte-Rueda & Nieves, 2009). El tipo sarcomatoide se asocia con grandes masas tumorales, ausencia o mínimo derrame cavitario y mayor frecuencia de metástasis hematógenas. El tipo mixto presenta rasgos comunes a los dos anteriores (García-López & Barrera-Rodríguez, 2000).

Las células neoplásicas son cúbicas clásicamente con cantidades escasas a moderadas de citoplasma eosinófilo. Típicamente, las formas papilares se componen de papilas de variable longitud y grosor que tienen núcleos fibrovasculares hialinos gruesos sustentando varias capas de células mesoteliales atípicas. El tipo sarcomatoide típicamente está compuesto por células de morfología alargada o fusiforme con atipia citológica significativa, creciendo de forma sólida y con capacidad infiltrativa. En algunos casos, los tumores son bifásicos con patrones epiteliales y sarcomatoides combinados (Brimo et al., 2010).

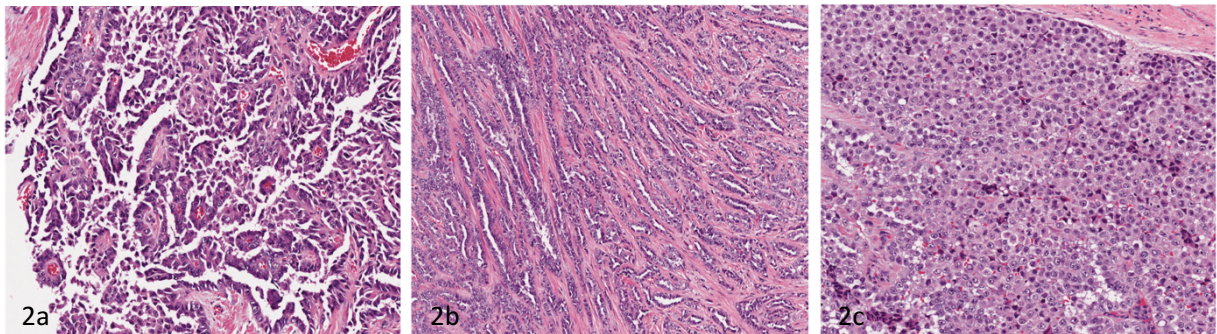


Figura 2: a. Patrón de crecimiento papilar, caracterizado por papilas revestidas por epitelio cuboidal de una o múltiples capas. b. Patrón de crecimiento tubular, caracterizado por túbulos o glándulas prominentes que se infiltran en el parénquima testicular. c. Patrón de crecimiento sólido o compacto. (Checkol & Sun, 2012)

Existen, minoritariamente, descripciones de casos con variantes morfológicas más inespecíficas, representadas por formas desmoplásicas, linfohistiocitoides, de células pequeñas o el mesotelioma decidua (Aponte-Rueda & Nieves, 2009).

Mesotelioma de la túnica vaginal testicular (MTV)

En los seres humanos, los mesoteliomas de la túnica vaginal testicular (MTV) son raros, representando solo 0.2-5.0% de todos los MM (Boyum & Wasserman, 2008). Algunos estudios en medicina humana indican que el 34.2 - 41.0% de los MTV se correlacionan con la exposición al amianto, el trauma testicular previo o la reparación herniaria.

El principal síntoma clínico de estos pacientes con MTV es una masa escrotal indolora con hidrocele. Las sospechas o diagnósticos preoperatorios más comunes son hidrocele (49.5%), tumor testicular (36.6%), hernia inguinal (5.9%), epididimitis (3%), espermatocoele (2%), torsión testicular (2%) y lesión del testículo postraumática (1%) (Yen et al., 2012).

Microscópicamente, la mayoría de los MTV son epiteliales con patrones papilares, tubulopapilares o sólidos (Plas et al., 1998). En la revisión literaria, el tipo epitelial se encontró en 31 casos (60,8%) y el tipo mixto en 19 casos (37,3%). Los casos descritos con un patrón puramente sarcomatoide son anecdóticos, solamente un caso (1,9%) (Plas et al., 1998); tales subtipos histológicos se han descrito con mayor frecuencia en mesoteliomas malignos pleurales y peritoneales.

Como ocurre con MM de otras ubicaciones y debido a su patrón de crecimiento común a otras neoplasias testiculares y paratesticulares, esta lesión poco común a veces puede ser de difícil diagnóstico. A veces se necesitan estudios auxiliares, como la inmunohistoquímica, para confirmar su origen.

El perfil inmunohistoquímico de los mesoteliomas que surgen de la túnica vaginalis testicular es similar a los que surgen de la pleura y suele ser positivo para citoqueratinas, vimentina, calretinina, anticuerpo del tumor de Wilms (WT1), antígeno de membrana epitelial (EMA) y trombomodulina, variablemente positivo para CK5 / 6 y negativo para antígeno carcinoembrionario (CEA) y citoqueratina 20 (CK20) (Chekol & Sun, 2012).

Tanto en medicina humana como en medicina veterinaria, la orquiectomía radical es el tratamiento inicial una vez que se ha establecido el diagnóstico de mesotelioma maligno (Boyum & Wasserman, 2008). En medicina humana, la recurrencia total del tumor se produce en el 53% de los pacientes, la mayoría de los cuales ocurre dentro de los 2 años. La recidiva local es común debido a la naturaleza agresiva del tumor, que varía del 35.7% después de una hidrocelectomía simple al 10.5% después de una orquiectomía escrotal (Plas et al., 1998).

Descripción de casos en veterinaria

A pesar de que en medicina veterinaria las neoplasias testiculares son relativamente frecuentes, en el caso de los mesoteliomas malignos de la túnica vaginal solamente se han descrito en tres especies: en el perro (Moran & Moore, 2001; Vascellari et al., 2011; Son et al., 2018; Cihak et al., 1986), en ratas (Gould, 1977) y en toros (Sutton, 1988).

Características clinicopatológicas e inmunohistoquímicas de los Mesoteliomas de túnica vaginal testicular en perros (1995-2017)

En perros, el primer caso que se describió de MTV en un perro fue en un Scottish Terrier de 12 años de edad. En este caso, el diagnóstico se estableció mediante examen histológico sin caracterización inmunohistoquímica y / o ultraestructural de la neoplasia. (Cihak et al., 1986).

En otro caso clínico descrito en 2001, el tumor de un Bóxer de 5 años fue el primero en el cual se describió la inmunohistoquímica para el diagnóstico de este tipo de tumores. Sobre la base de tinción inmunohistoquímica para filamentos intermedios, las masas tumorales en este caso se componían principalmente de células de tipo mesenquimatoso con diferenciación mioide multifocal. Inmunohistoquímicamente, las células tumorales mostraron tinción citoplásmica difusa, positiva y granular para vimentina, con la excepción de las células superficiales estratificadas, cuyo citoplasma se marcó positivamente para citoqueratina. Las células tumorales positivas a vimentina también mostraron tinción citoplásmica granular positiva para la desmina y la actina del músculo liso. El citoplasma de las células mesoteliales hiperplásicas también fue positivo para citoqueratina. (Moran & Moore, 2001)

En 2011, otro caso descrito en un perro de raza mixta de 9 años definía la neoplasia como maligna, caracterizadas por un patrón tubular que era parcialmente adenomatoide en apariencia. Las células tumorales se tiñeron positivamente para citoqueratina, vimentina y antígeno HBME-1. Estos hallazgos sugerían fuertemente que el MM canino de la túnica vaginalis testicular comparte características inmunofenotípicas similares con el MM de la túnica vaginalis informada en seres humanos. (Vascellari et al., 2011)

La última descripción sobre este tumor maligno en el perro ha sido en 2018, un caso descrito en un perro Corgi galés de 12 años de edad. En el examen macroscópico, se encontraron nódulos blancos en el epidídimo y el conducto deferente. Histopatológicamente, los nódulos se desarrollaron continuamente a partir de la túnica vaginal testicular del escroto derecho y consistían en células neoplásicas fusiformes que invadían el tejido circundante. Inmunohistoquímicamente, las células neoplásicas fueron difusamente positivas para vimentina, citoqueratina y tumor de Wilms-1 (WT-1). El perro presentó múltiples lesiones metastásicas en el pulmón, los ganglios linfáticos abdominales y el peritoneo. El perro murió 144 días después de la cirugía debido a la progresión de la enfermedad (Son et al., 2018).

En un estudio de los mesoteliomas en la rata (Gould, 1977) se observó que el sitio principal de desarrollo era la túnica vaginal y que varios animales tenían extensión a la cavidad peritoneal sin metástasis a los ganglios linfáticos o afectación de otros sitios. Esto sugería que la extirpación quirúrgica completa de dicha neoplasia ofrecía una posibilidad razonable de curación.

En cuanto a la aparición de esta neoplasia en toros, se describió un caso de mesotelioma bilateral en la túnica vaginal (Sutton, 1988) en un toro de 18 meses de edad. La diferenciación del tumor con el adenocarcinoma, en el citado artículo, se basó en características ultraestructurales, particularmente en la morfología de las microvellosidades y la presencia de microfilamentos.

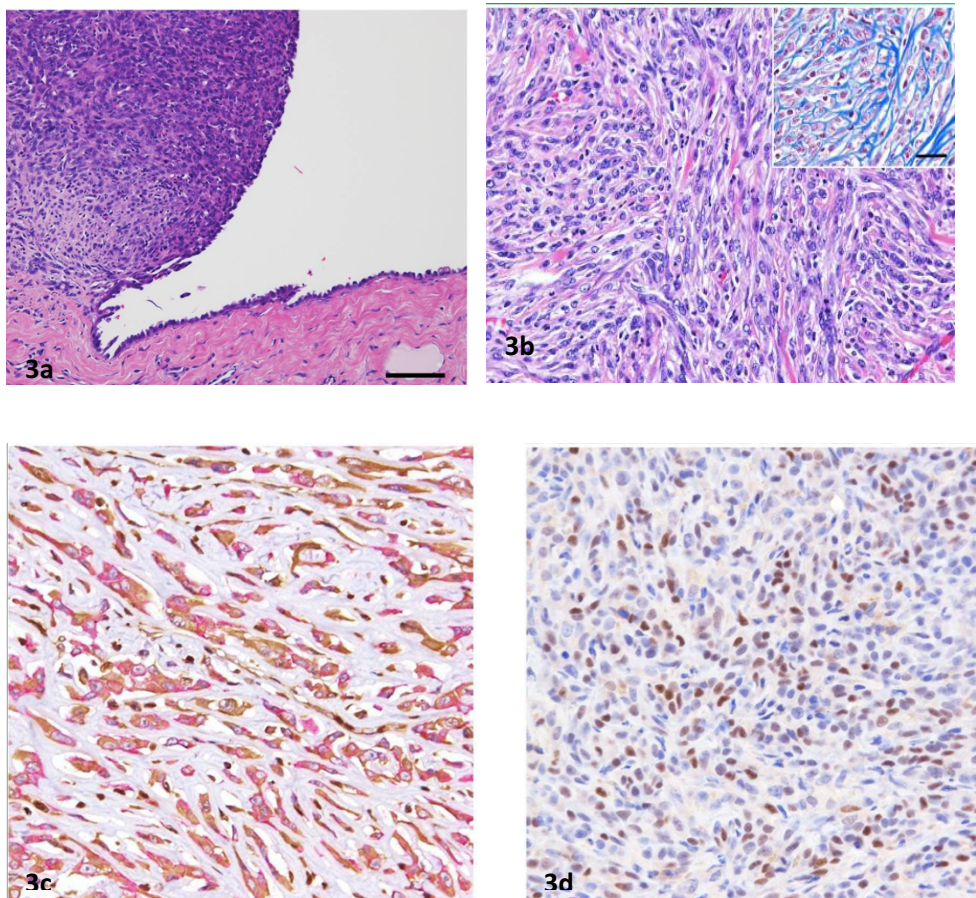


Figura 3: a. La masa es continua al mesotelio de la túnica vaginalis testicular. Tinció HE. Bar = 100 μ m. b. Las células neoplásicas tienen forma de huso con núcleos redondos-alargados y escaso citoplasma. Tinció HE. Bar = 50 μ m. c. El citoplasma de las células tumorales es positivo tanto para vimentina (marrón) como para citoqueratina (rojo). Doble tinció IHQ. Bar = 50 μ m. d. Los núcleos de las células tumorales son positivos para WT-1. Tinció IHQ. Bar = 50 μ m. (Son et al. 2018)

Diagnòstic diferencial del MTV

El diagnòstic diferencial del mesotelioma paratesticular inclou afeccions tant benignes com malignes. La hiperplasia mesotelial, el mesotelioma papil·lar ben diferenciado, el carcinoma epitelial i l'epididimari i els tumors adenomatoides poden presentar característiques morfològiques similars i poden simular un mesotelioma maligne (Boyum & Wasserman, 2008).

Característiques clinicopatològiques e immunohistoquímiques de los Mesoteliomas de túnica vaginal testicular en perros (1995-2017)

Objetivos

El presente estudio tiene como principal objetivo establecer las claves para el diagnóstico de esta neoplasia, describiendo las características clínicas, histológicas e inmunohistoquímicas, así como el resultado clínico de estas neoplasias poco frecuentes en el perro, mediante la obtención de muestras de perros con este tumor y sus historiales clínicos. Los principales objetivos son resumidos a continuación:

1. Establecer la malignidad de dicha neoplasia.
2. Indicar la progresión de la enfermedad.
3. Señalar la lateralidad en la presentación clínica del tumor.
4. Descubrir las formas mayoritarias de presentación clínica.
5. Estudiar los diferentes tipos histológicos de la neoplasia, así como
6. Establecer sus patrones de crecimiento.
7. Describir el principal perfil inmunohistoquímico de la enfermedad.

Material y métodos

Selección de casos

Los casos seleccionados en el presente estudio se obtuvieron tras una búsqueda exhaustiva en el archivo del Servicio de Diagnóstico Histopatológico Veterinario HistoVet de Barcelona. Se trata de un laboratorio privado, de ámbito exclusivamente anatomopatológico y veterinario, que recibe entre 28.000 y 30.000 biopsias anuales. Se incluyeron finalmente 13 perros con un diagnóstico de mesoteliomas de la túnica vaginal o mesotelioma testicular, diagnosticados entre 1995 y 2017.

Cuando fue posible, la historia, los signos clínicos, las radiografías de los hallazgos, la respuesta al tratamiento y la información del seguimiento se obtuvieron a través de correo electrónico y entrevistas telefónicas con los médicos veterinarios referentes.

Preparación de tejidos

Se confirmó el diagnóstico histológico en todos los casos seleccionados mediante la re-examinación microscópica de las muestras incluidas en parafina. Todos los casos estudiados habían sido fijados en formalina tamponada neutra al 10% durante 24 o 48 horas a temperatura ambiente, deshidratados a través de alcoholes de concentración creciente e incluidos en parafina. Los bloques de parafina se seccionaron a 3 μ m y se tiñeron con hematoxilina y eosina (HE) para el estudio histopatológico de rutina.

Inmunohistoquímica

Los anticuerpos primarios utilizados para inmunohistoquímica fueron citoqueratinas (CK) AE1/AE3, CK5/8, CK7, CK20, vimentina (VIM), y Antígeno carcinoembrionario (CEA). Las características técnicas de estos anticuerpos se detallan en la tabla 1.

Anticuerpo	Clon	Tipo	Distribuidor	Control positivo
Ck7	OV-TL 12/30	M	Dako	Piel canina (glándulas apocrinas)
Ck20	Ks20.8	M	Dako	Epitelio intestinal canino
Cks5+8	RCK-102	M	EuroDiagnostica	Piel canina (epidermis)
pan-Ck	AE1/AE3	M	Dako	Piel canina (epidermis)
CEA	-	P	Dako	Carcinoma de colon canino
Vimentina	V9	M	Zymed	Piel canina (dermis)

Tabla 1: Características técnicas de los anticuerpos usados en el estudio inmunohistoquímico.

Características clinicopatológicas e inmunohistoquímicas de los Mesoteliomas de túnica vaginal testicular en perros (1995-2017)

Secciones de 3 μm de grosor fueron recogidas en portaobjetos previamente recubiertos con Vectabond™ (Sigma Diagnostics Inc., Livonia, MI). Se conservaron a 37°C durante 24h y, posteriormente, se desparafinaron en xilol, rehidrataron en alcoholes de graduación decreciente y se incubaron con Peróxido de Hidrógeno al 3% en metanol durante 30 minutos a temperatura ambiente, para bloquear la actividad de la peroxidasa endógena. El desenmascaramiento antigénico fue realizado mediante incubación con una solución de pronasa al 0.1% (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) para los anticuerpos anti- citoqueratinas y anti-vimentina, y con tampón citrato (pH 6,2) en un baño de agua a 95 ° C durante 25 minutos para anticuerpo anti-CEA.

Los cortes fueron posteriormente incubados a temperatura ambiente durante 1 hora con los anticuerpos primarios monoclonales o policlonales (Tabla 2), seguido de la aplicación del sistema EnVision +, peroxidasa (Diaminobenzidina - DAB) (K5007, Dako Corporation, CA). Finalmente, las secciones se contratiñeron ligeramente con hematoxilina de Mayer, se lavaron en agua del grifo y se montaron de forma acuosa. Secciones en las que los anticuerpos primarios específicos fueron reemplazados por PBS se incluyeron como controles negativos y se ejecutaron simultáneamente con los casos problema. Varios tejidos sirvieron como control positivo (Tabla 1) para los diferentes anticuerpos en cada ensayo.

Resultados

Hallazgos clínicos

La edad de los animales afectados se situó entre los 4 y los 14 años de edad (media = 8,7 años). Cabe destacar que solamente hubo un animal menor de los 7 años de edad y que, en general, la edad de presentación es alta. En cuanto a la raza de los animales, no se observaron indicios de predisposición racial. Seis de 13 casos (46,2%) eran animales mestizos, racialmente no definidos, por 7/13 (53,8%) de razas puras; de estos últimos, las razas afectadas eran múltiples y sólo dos de ellos correspondían a una misma raza (Yorkshire Terrier, casos 11 y 13) (Tabla 2).

La presentación del tumor fue unilateral en 11/13 casos (84,6%) y bilateral en 2/13 casos (15,4%). El tratamiento escogido en la mayoría de los casos fue la castración completa (8/9 de los casos, 88,9%). En uno de los casos no se llevó a cabo ningún tratamiento y se optó por la eutanasia y en 4 de los casos no se pudo determinar la pauta de tratamiento.

Clínicamente, se manifestaron signos/sospecha de metástasis en 4 de 8 casos (50%); en 5 de los animales no se pudo determinar. Entre ellos se puede destacar ascitis (3/8, 37,7%) y derrame pleural (1/8; 12,5%). En la citología de líquido ascítico/pleural se pudo apreciar la presencia de células neoplásicas, con núcleos gigantes (macrocariosis) y de distintos tamaños (anisocariosis), así como diferentes tamaños celulares (anisocitosis) (Figura 4).

Finalmente, la mayoría de los animales sometidos a castración (7/8, 87,5%) sufrieron metástasis en diferentes órganos antes de los 7 meses, de los cuáles 5/7 (71,4%) fueron eutanasiados y los 2 restantes (28,6%) murieron a causa de la neoplasia; solamente uno de ellos (caso 10) murió por muerte natural (no relacionada con la neoplasia).

Cabe destacar que, en un alto número de casos (en 8/9 de los casos en los que fue determinado, 88,9%), la neoplasia cursó con hidrocele; en uno de los casos no se observó y en 4 de los casos no se determinó.

Nº Caso	Raza	Edad	Presentación clínica	Hidrocele	Tratamiento	Seguimiento
1	Cruce	7	Aumento de tamaño testicular izquierdo. Unilateral	-	-	-
2	Springer Spaniel	6	Criptorquidia. Crecimiento repentino del testículo derecho. Unilateral	Sí	Castración bilateral	Metástasis. Eutanasia
3	Cruce	7	Inflamación testicular bilateral de evolución rápida. Bilateral	Sí	Castración completa. Cordón infiltrado.	Ascitis y posterior Eutanasia
4	Pastor Alemán	11	Aumento tamaño testicular derecho. Efusión abdominal. Unilateral	-	Eutanasia	Metástasis
5	Cruce	8	Testículo izquierdo irregular. Prostatomegalia. Unilateral	Sí	Orquiectomía. Cordón infiltrado.	Quimioterapia Efusión pleural. Eutanasia
6	Teckel	-	Tumor testicular dcho. que infiltra los vasos sanguíneos. Unilateral	Sí	Extirpación incompleta. Cordón infiltrado.	Ascitis. Muerte asociada a neoplasia
7	Bulldog Francés	7	Testículo aumentado de tamaño. Unilateral	No	Castración.	-
8	Bretón	11	Disuria + Hidrocele. Bilateral	Sí	Orquiectomía. Cordón infiltrado.	Metástasis. Eutanasia
9	Cruce	14	Testículo aumentado de tamaño. Unilateral	Sí	-	-
10	Cruce	4	Testículo engrosado. Unilateral	-	Orquiectomía	No recidiva, no metástasis. Muerte no asociada a neoplasia
11	Terrier Yorkshire	-	Testículo aumentado de tamaño izquierdo. Unilateral	Sí	-	-
12	Cruce	10	Testículo aumentado de tamaño. Unilateral	Sí	Orquiectomía incompleta, muy infiltrativo.	Metástasis. Muerte asociada a neoplasia
13	Terrier Yorkshire	10	Inflamación zona del epidídimo y testículos.	-	-	-

Tabla 2: presentación clínica de los perros del estudio.

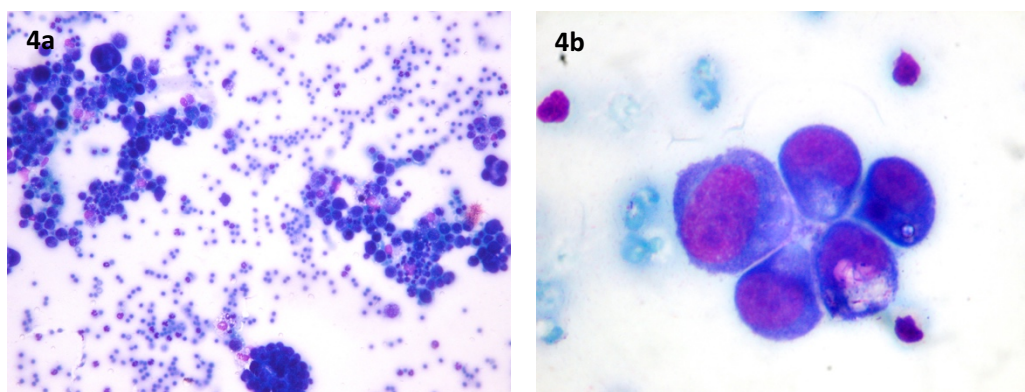


Figura 4: a. Caso 6: citología del líquido ascítico en la que se pueden apreciar células neoplásicas (x20) b. Caso 3: detalle de células neoplásicas en citología con anisocariosis y macrocariosis (x100)

Características macroscópicas

Se observó un predominio de crecimientos multinodulares-papilares en 7/13 casos (53,8%). En 2/13 (15,14% de los casos), el crecimiento se manifestó como difuso en la túnica vaginal (TV). En los casos restantes (4/13 casos, 30,8%), la neoplasia se presentó como una masa localizada, paratesticular e infiltrativa (Tabla 3).

Nº Caso	Crecimiento	Invasión cordón	Mineralización	Hemorragia/ necrosis
1	Multilobulado. Multifocal. Engrosamiento TV. Nodular	Sí	No	No
2	Papilar	Sí	No	No
3	Granulomatoso. Polipoide. Infiltrativo. Engrosamiento TV	Sí	Sí	No
4	Papilar. Engrosamiento TV y epidídimo	Sí	No	No
5	Nodular. Papilar. Múltiple	Sí	Sí, en ambas túnicas	-
6	Difuso y multifocal	Sí	Sí	Sí
7	Nodular, papilar y múltiple	Sí	No	No
8	Masa sólida. Nodular. Engrosamiento TV	Sí	No	Sí
9	Difuso. Engrosamiento TV	Sí	No	No
10	Nodular y papilar	Sí	No	No
11	Nodular. Masa sólida. Engrosamiento TV	Sí	No	No
12	Masa sólida ocupando cordón, epidídimo, testículo. Engrosamiento TV	Sí	No	Sí
13	Masa sólida ocupando cordón, epidídimo, testículo. Engrosamiento TV	Sí	No	Sí

Tabla 3: características macroscópicas de los perros con MTV.

Características clinicopatológicas e inmunohistoquímicas de los Mesoteliomas de túnica vaginal testicular en perros (1995-2017)

Otras anomalías significativas observadas incluyeron mineralización severa de la túnica vaginal en uno de los animales (caso 5, 7,7%) y multifocal, de consistencia arenosa a la palpación o al corte en dos (casos 3 y 6) de los casos estudiados (15,4%). Además, se halló hemorragia y/o necrosis en 4 de los casos (30,8%) e invasión/afección del cordón espermático en todos los casos observados (100%).

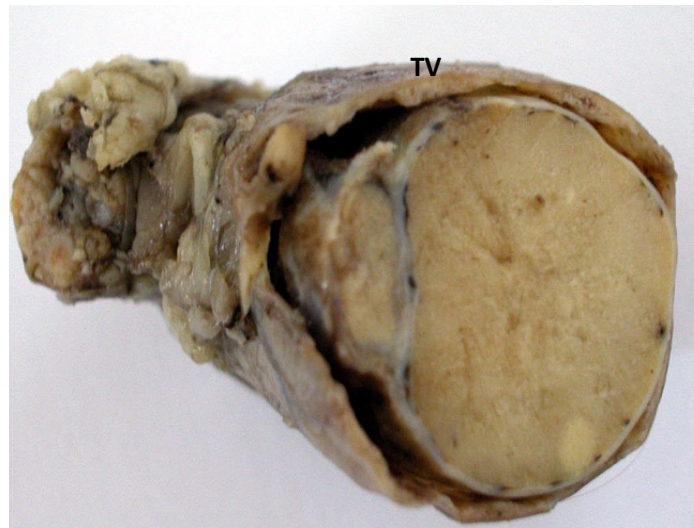


Figura 5: Caso 5: vista macroscópica de un testículo afectado. Se puede apreciar la TV engrosada.

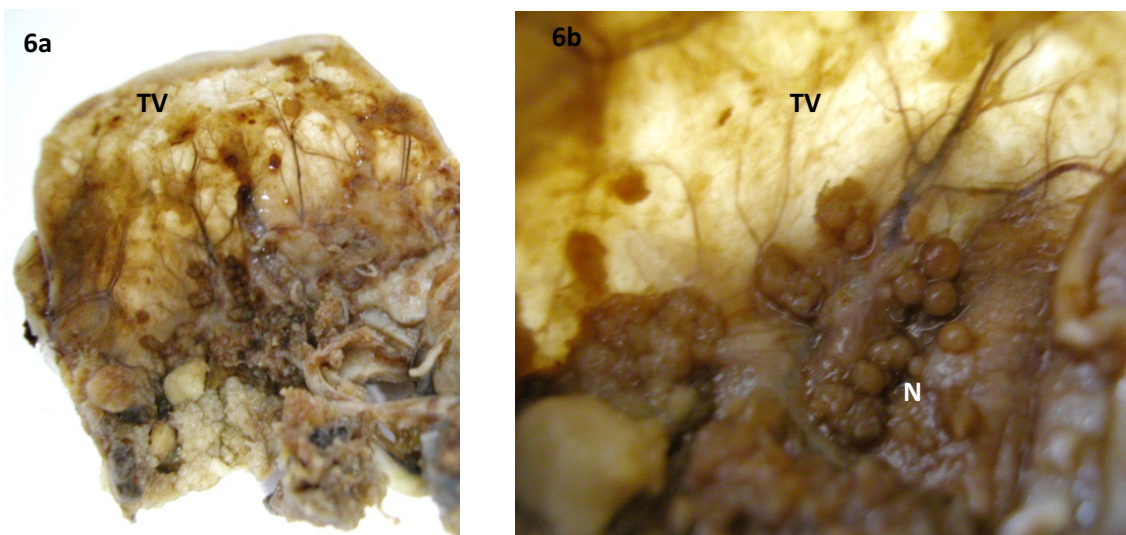


Figura 6: Caso 5: a. TV engrosada b. Caso 5: detalle de la TV donde se pueden apreciar crecimientos nodulares (N).

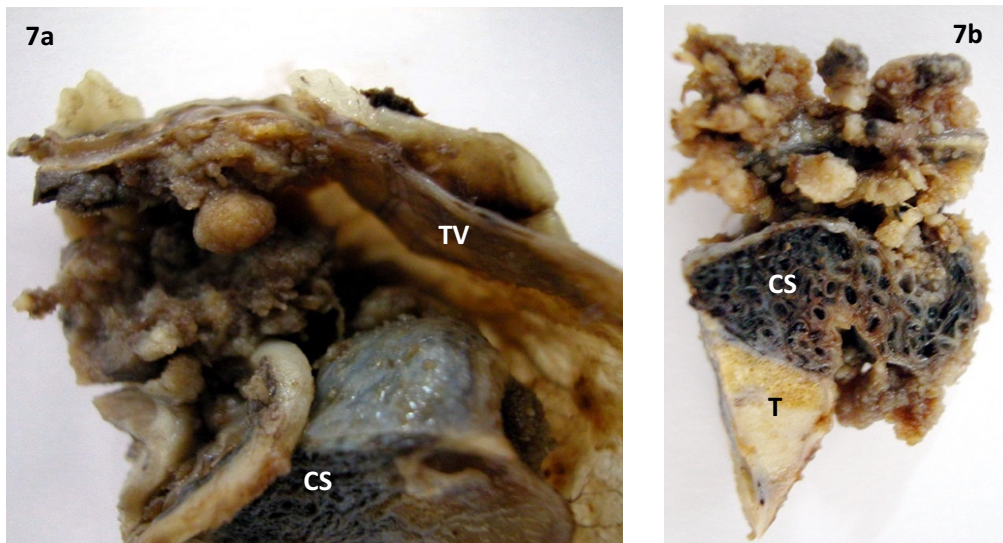


Figura 7: a. Caso 5: vista del cordón espermático afectado (CS) y de la TV engrosada. b. Caso 5: detalle del CS afectado y de un corte del testículo (T).

Características microscópicas

Se diferenciaron hasta tres tipos histológicos distintos entre los casos estudiados (Tabla 4) (Figura 8). La gran mayoría de los casos (10/13) tuvieron tipo histológico epitelial (76,9%) (Figura 8a), caracterizado por células de una morfología cuboidal a poligonal (7/10, 70%) predominantemente, de rasgos más pleomórficos o anaplásicos en los casos 12 y 13 (2/10, 20%). En uno de los casos, las células presentaron frecuentes áreas compuestas de células con una morfología columnar, con células de citoplasma alargado y núcleos orientados basalmente (caso 1, 10%). Respecto al patrón histológico de crecimiento, las células se organizaron predominantemente en formaciones papilares (6/10 casos epiteliales, 60%), formando estructuras tubulares o adenoides en dos casos (casos 1 y 13, 20%), evolucionando de forma difusa a lo largo de la línea mesotelial y formando micropapilas (caso 4, 10%) con cierta capacidad infiltrativa, o evolucionando de forma sólida, compacta, en cordones o nidos de células (caso 12, 10%) (Figura 9).

Sólo en uno de los casos estudiados (1/13, 7,7%) se halló un tipo histológico sarcomatoide (Figura 8b), caracterizado por elementos de morfología predominantemente alargada-fusiforme, con núcleos atípicos, alargados a ovalados, frecuentemente de contorno irregular. En este caso, la neoplasia presentaba un patrón de crecimiento sólido.

Dos de los casos estudiados presentaron un tipo histológico mixto (2/13, 15,4%) (Figura 8c), compuesto por una combinación de células con los rasgos morfológicos descritos anteriormente para los tipos epitelial y sarcomatoso. Estas células crecían formando proyecciones papilares (caso 7) o como crecimiento sólido (caso 8).

Características clinicopatológicas e inmunohistoquímicas de los Mesoteliomas de túnica vaginal testicular en perros (1995-2017)

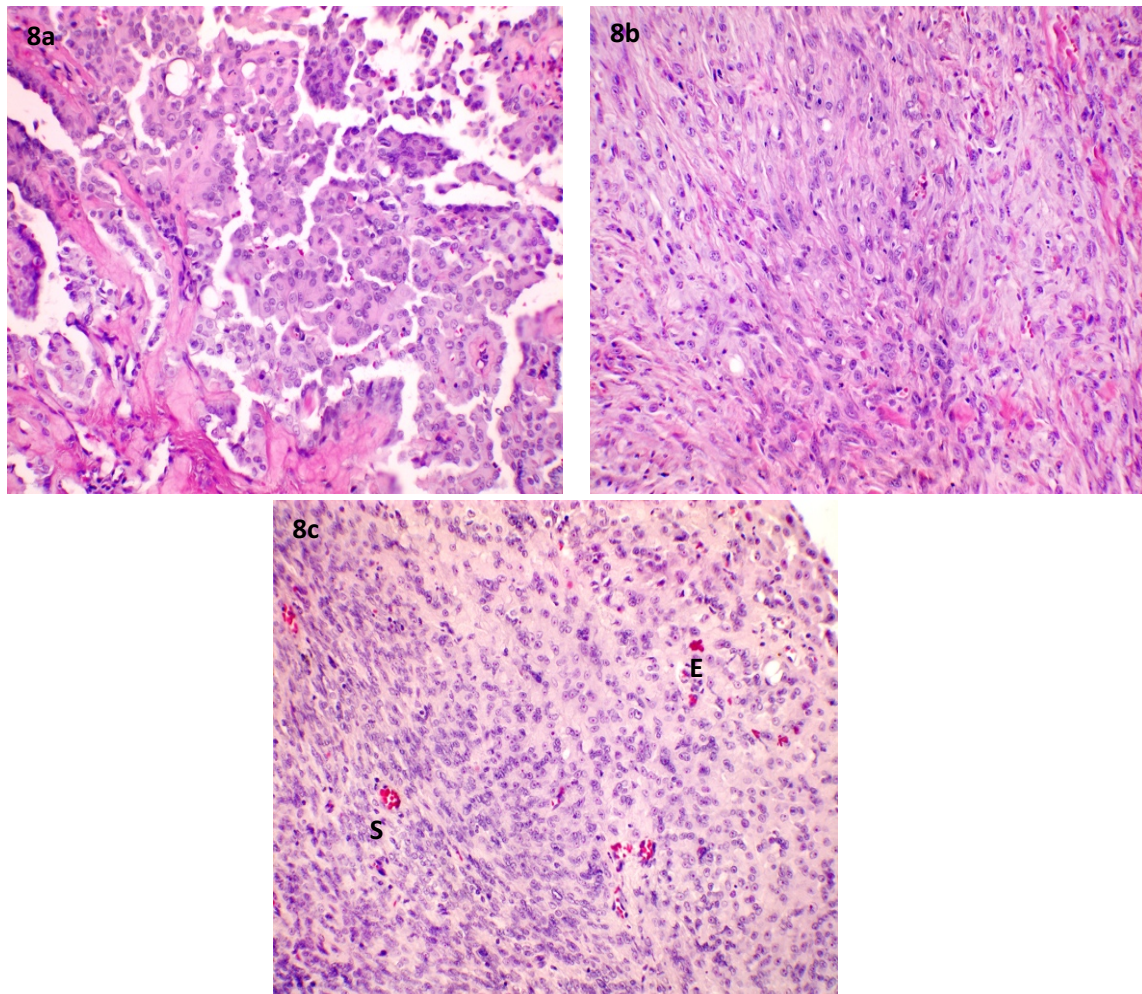


Figura 8: a. Caso 10: tipo histológico epitelial. b. Caso 11: tipo histológico sarcomatoide. c. Caso 7: tipo histológico mixto o bifásico (S=sarcomatoso; E=epiteliode). (Tinción HE, x20)

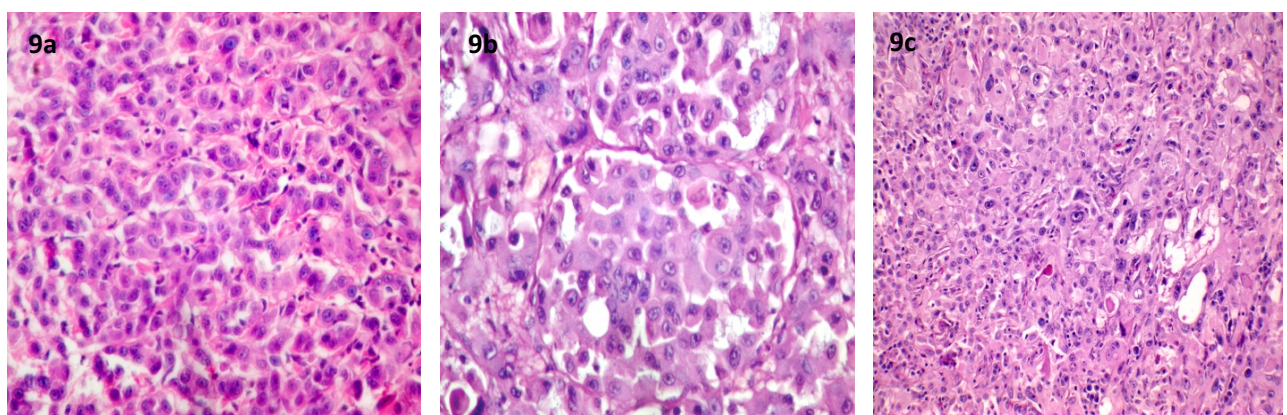


Figura 9: a. Caso 11: patrón sólido con cordones (x40). b. Caso 8: patrón sólido con nidos (x40). c. Caso 12: patrón sólido anaplásico (x20). (Tinción HE)

Características clinicopatológicas e inmunohistoquímicas de los Mesoteliomas de túnica vaginal testicular en perros (1995-2017)

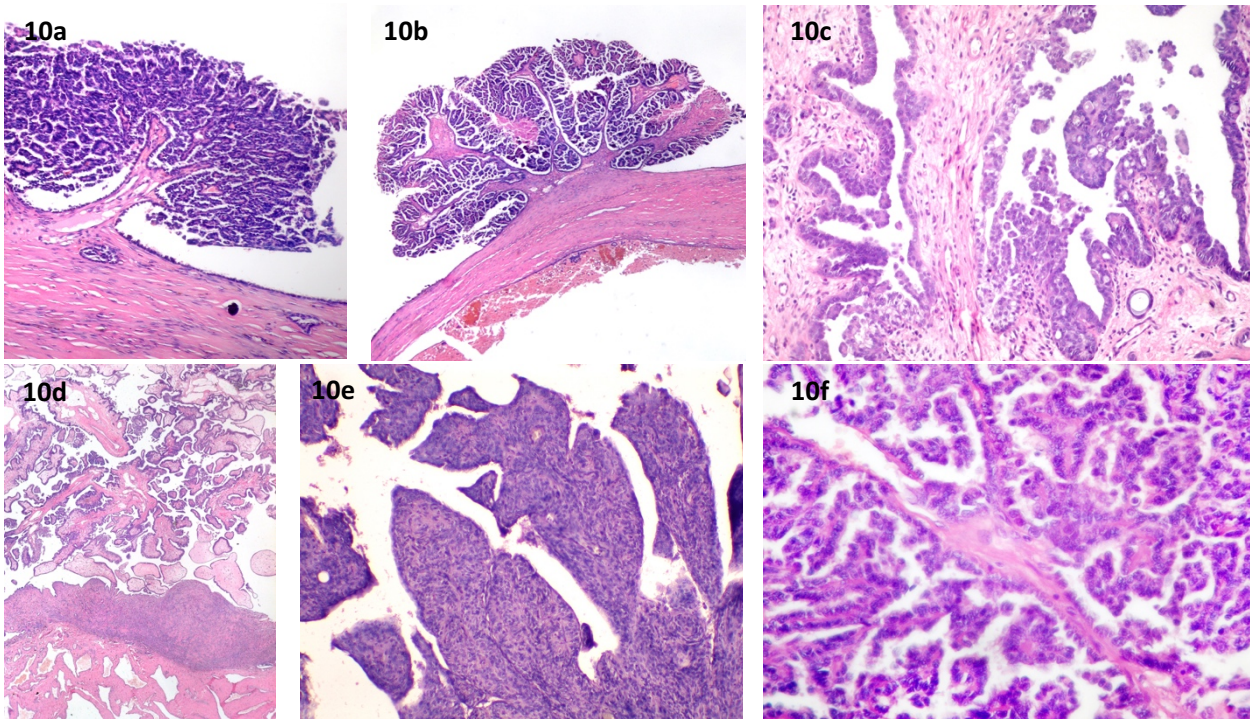


Figura 10: a. Caso 2: patrón de crecimiento papilar (HE, x20) b. Caso 6: patrón de crecimiento papilar (HE, x10) c. Caso 3: patrón papilar, detalle en el que se pueden apreciar las diferentes formas de las papilas, con un eje central de tejido conjuntivo tapizado de una o varias capas de células neoplásicas (HE, x20) d. Caso 3: patrón papilar (HE, x4) e. Caso 7: patrón papilar con tipo histológico mixto (HE, x4) f. Caso 2: detalle de las papilas formadas (HE, x40)

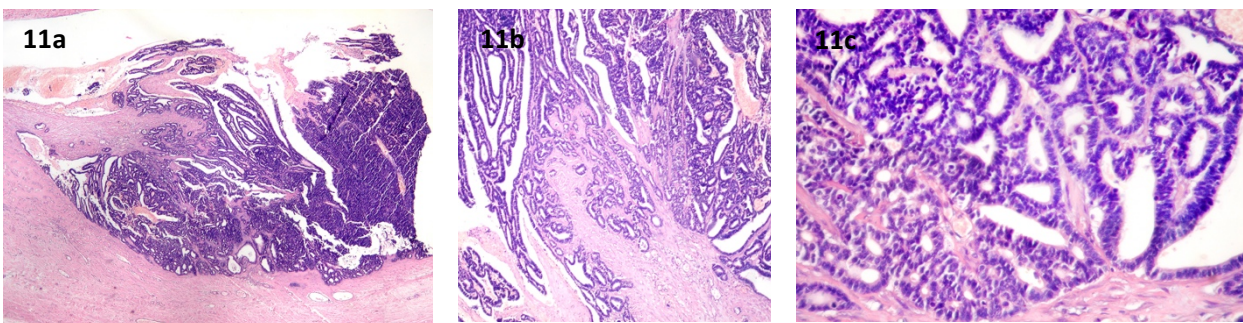


Figura 11: a. Caso 1: patrón tubulopapilar-adenoide. (HE, x4) b. Caso 1: patrón tubulopapilar-adenoide. (HE, x10) c. Caso 1: detalle del patrón tubulopapilar-adenoide (HE, x40)

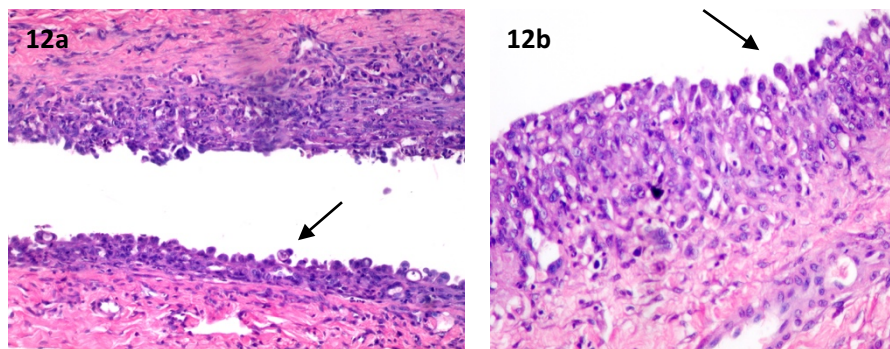


Figura 12: a. Caso 6: patrón difuso a lo largo de la línea mesotelial; nótese la tendencia de las células a formar micropapilas (flechas) (HE, x20). b. Caso 6: detalle de las micropapilas (HE, x40)

Características clinicopatológicas e inmunohistoquímicas de los Mesoteliomas de túnica vaginal testicular en perros (1995-2017)

Nº Caso	Tipo histológico	Atipia	Invasión vascular	Invasión testículos/ epidídimo	Recuento mitótico (x10HPF.)	Morfología celular predominante	Patrón crecimiento predominante
1	Epitelial	2	No	Epidídimo	3	Cuboidal-columnar	Tubulopapilar-adenóide
2	Epitelial	2	Sí (hematogénica)	-	5	Cuboidal-poligonal	Papilar
3	Epitelial	2	Sí (linfática)	Testículo	1	Cuboidal-poligonal	Papilar
4	Epitelial	3	Sí (hematogénica)	Epidídimo	2	Cuboidal-poligonal	Micropapilar-difuso
5	Epitelial	3	No	No	-	Cuboidal-poligonal	Papilar
6	Epitelial	3	Sí (hematogénica + linfática)	Epidídimo + testículo	3	Cuboidal-pleomórfica	Papilar
7	Mixto	2	No	No	2	Cuboidal-pleomórfica	Papilar
8	Mixto	3	Sí (hematogénica)	Testículo	4	Cuboidal-poligonal-fusiforme-anaplásica	Sólido
9	Epitelial	3	No	Testículo	2	Cuboidal-poligonal	Papilar
10	Epitelial	2	No	No	6	Cuboidal	Papilar
11	Sarcomatoides	2	No	Epidídimo + testículo	6	Alargada-fusiforme	Sólido
12	Epitelial	3	No	Epidídimo + testículo	15	Anaplásica	Sólido
13	Epitelial	3	Sí (linfática)	Epidídimo + testículo	2	Poligonal-anaplásica	Tubulopapilar-adenóide

Tabla 4: características microscópicas.

La atipia celular fue considerada de moderada a alta en el 100% de los casos. El recuento mitótico medio observado fue 3,92/10hpf, pudiendo, ocasionalmente, ser muy alto. De todos los casos estudiados se halló invasión vascular en seis de los casos (46,1%), tanto de tipo linfática (2/13) como de tipo hematogénica (3/13) o ambas (1/13).

Analizando la invasión de tejidos o estructuras próximas, se encontró invasión del testículo en el 23,1% de los casos (3/13) y del epidídimo (en conjunto o no con el testículo) en el 46,1% (6/13) de los casos.

En cuanto a otros hallazgos microscópicos, destacar la presencia de necrosis en el 38,5% de los casos (5/13) e inflamación, de diferentes grados, en la mayoría de los casos con un 84,6% (11/13). La desmoplasia, se observó en el 69,2% de los casos (9/13) (Tabla 5).

Nº Caso	Desmoplasia	Necrosis	Inflamación
1	Sí	Sí	1
2	Sí	Sí	2
3	Sí	No	3
4	Sí	No	1
5	No	No	2
6	Sí	Sí	1
7	No	No	0
8	Sí	No	1
9	Sí	No	3
10	No	No	0
11	Sí	No	2
12	No	Sí	2
13	Sí	Sí	3

Tabla 5: rasgos de evolución de la enfermedad.

Características inmunohistoquímicas (IHQ)

En cuanto a la diferencias inmunohistoquímicas, todos los casos fueron positivos a los anticuerpos AE1/AE3, Vimentina y CK5/8. El anticuerpo anti-CK7 fue variablemente positivo (69,2%). Por el contrario, todos los casos fueron negativos para los anticuerpos CEA y de CK20 (Tabla 6) (Figura 13).

Nº Caso	AE1/AE3	CK5/8	CK7	CK20	Vim	CEA
1	+	+	+	-	+	-
2	+	+	-	-	+	-
3	+	+	-	-	+	-
4	+	+	-	-	+	-
5	+	+	+	-	+	-
6	+	+	-	-	+	-
7	+	+	+	-	+	-
8	+	+	+	-	+	-
9	+	+	+	-	+	-
10	+	+	+	-	+	-
11	+	+	+	-	+	-
12	+	+	+	-	+	-
13	+	+	+	-	+	-

Tabla 6: resultados inmunohistoquímicos.

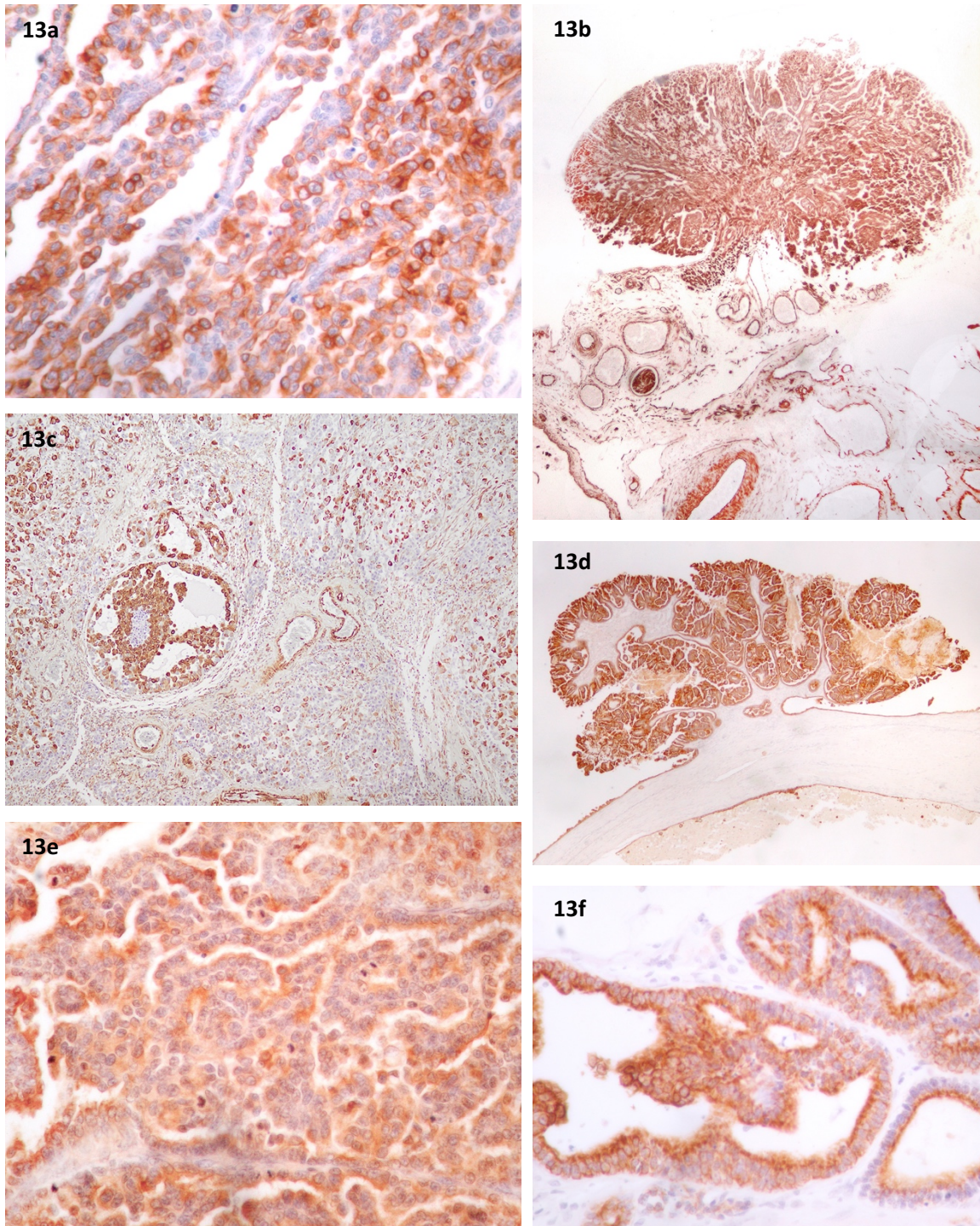


Figura 13: a. Caso 2: detalle de positividad para AE1/AE3 en mesotelioma de tipo epitelial y papilar. El patrón de reacción es citoplasmático (Tinción IHQ, x40). b. Caso 2: fuerte positividad para vimentina, tanto en las células neoplásicas como en las células mesenquimatosas normales (control interno +) (Tinción IHQ, x4). c. Caso 2: positividad para vimentina en un mesotelioma de crecimiento sólido. Se puede apreciar como también se tiñen las capas musculares de los vasos sanguíneos. (Tinción IHQ, x10). d. Caso 6: positividad para AE1/AE3, centrada en las células neoplásicas y mesotelio. (tinción IHQ, x10). e. Caso 2: positividad para CK 5/8 en mesotelioma papilar (Tinción IHQ, x40). f. Caso 1: positividad para CK 7 en mesotelioma tubular-adenoide (Tinción IHQ, x40).

Discusión

En nuestra serie de casos, la presentación clínica es básicamente unilateral; la bilateralidad es extremadamente rara (2/13 casos). En medicina humana la presencia de MTV bilateral solamente se ha descrito en el 3,8% de los casos (Plas et al., 1998). En veterinaria no se había descrito ningún caso de bilateralidad hasta ahora (Son et al., 2018).

La edad de presentación es mayoritariamente en adultos o animales de avanzada edad. El 92,3% de los animales tenían más de 7 años de edad. Esto concuerda con los otros casos descritos en perros. En medicina humana la edad de presentación también se da en hombres de edad avanzada, con una media de edad de 53.5 años. (Chekol & Sun, 2012)

La mayoría de los casos sufrieron metástasis (87,5%). En medicina humana se ha descrito varias veces la progresión del tumor con desarrollo de metástasis tumorales linfáticas o distantes. (Plas et al., 1998)

El hidrocele se vincula con el mesotelioma de túnica vaginal en humanos (56.3% de los casos) (Plas et al., 1998), se ha observado en un caso descrito en un perro con MTV y se presentó en 8/9 casos con seguimiento en nuestra serie. Por lo tanto, MTV debería ser considerado en aquellos perros con diagnóstico clínico de hidrocele. En medicina humana autores recomiendan que el MTV no debe pasarse por alto cuando se observan quistes escrotales benignos o hidroceles. (Arda et al., 2017)

Existe un predominio de crecimientos multinodulares-papilares en la mayoría de los casos. En todos los casos descritos en perros este crecimiento también estaba presente (Cihak et al., 1986; Moran & Moore, 2001; Vascellari et al., 2011; Son et al., 2018). El crecimiento también puede manifestarse como difuso (en el 15,14% de los casos) y como una masa paratesticular infiltrativa (en el 30,8% de los casos). En medicina humana, los MM tienen un patrón de crecimiento difuso e infiltrativo (Chekol & Sun, 2012).

Entre los casos analizados, se han podido distinguir los tres diferentes tipos histológicos descritos en la bibliografía en la especie humana: epitelioide (más común), sarcomatoide y mixto. En el perro, los casos previamente descritos representan formas epiteliales (Cihak et al., 1986; Vascellari et al., 2011; Moran & Moore, 2001) y un caso sarcomatoide (Son et al., 2018). De forma similar a lo descrito en humanos, la forma predominante en el presente estudio es la epitelial (60,8%), después la mixta (37,3%) y por último la forma puramente sarcomatoide que sólo se da en el 1.9% de los casos (Plas et al., 1998), ya que ésta es más común encontrarla en MM pleurales o peritoneales. (Chekol & Sun, 2012)

Papilar y tubulopapilar-adenoide son los tipos de crecimiento histológico más común en los casos estudiados (69,2%), coincidiendo así con la bibliografía descrita en perros (Moran & Moore, 2001; Vascellari et al., 2011; Cihak et al., 1986; Son et al., 2018). Además, también se han observado patrones de crecimiento histológico del tipo micropapilar-difuso y sólido (cordones, nidos, anaplásico). En medicina humana los patrones de crecimiento más comunes son los papilares, tubulopapilares y los sólidos (Chekol & Sun, 2012; Brimo et al., 2010).

Características clinicopatológicas e inmunohistoquímicas de los Mesoteliomas de túnica vaginal testicular en perros (1995-2017)

Además de la ubicación y la morfología del tumor, la inmunohistoquímica es un complemento importante para el diagnóstico de mesotelioma. Como se describió en casos anteriores de MTV en perros, las células neoplásicas en los presentes casos fueron positivas tanto para citoqueratina y vimentina (Moran & Moore, 2001; Vascellari et al., 2011; Son et al., 2018). CEA, que fue negativo en los casos presentes, se ha utilizado para diferenciar el mesotelioma de otros tumores epiteliales en un caso canino (Vural et al., 2006). En medicina humana, el perfil inmunohistoquímico de los MTV es similar a los descritos en perros y suele ser positivo para calretinina, anticuerpo del tumor de Wilms (WT1), D2-40, antígeno de membrana epitelial (EMA), trombomodulina y CK7, variablemente positivo para CK5 / 6 y negativo para antígeno carcinoembrionario (CEA) y citoqueratina 20 (CK20) (Chekol & Sun, 2012; Winstanley AM et al., 2006).

El principal diagnóstico diferencial del MTV incluye la hiperplasia mesotelial (HM), ya sea del tipo reactivo o inflamatorio. Las presentaciones clínicas de la HM son generalmente distintas del mesotelioma de la túnica vaginalis testis: encontramos que la HM se asocia comúnmente con un saco herniario, mientras que el hidrocele se asocia a MTV, tal y como se ha indicado anteriormente (con un 88,9% de los casos) (Ulbrigh et al., 1999). Además, las HM generalmente se limitan a las superficies serosas, mientras que la invasión al estroma subyacente y la celularidad densa del estroma son indicadores útiles del mesotelioma maligno. Además, la atipia citológica alta se ve comúnmente en los MTV, en un 100% de los casos en nuestro estudio, mientras que solo se observa atipia mínima en la HM (Chekol & Sun, 2012). Sin embargo, en un caso de HM descrito en veterinaria, del tipo inflamatorio, se encontró, en los hallazgos histológicos, que la mayor parte de la superficie pleural del mediastino formaba proyecciones papilares cubiertas por una sola capa de células mesoteliales y que eran cuboidales con núcleos redondos ricos en cromatina y citoplasma basófilo (Yamada et al., 2013). Esto hace que se pueda confundir dicha enfermedad con los MTV y por ello hay que incluirla en el diagnóstico diferencial.

El adenocarcinoma de rete testis (ART) también es un diagnóstico diferencial a tener en consideración. El rete testis forma parte del sistema de conductos del testículo. Estos tumores consisten macroscópicamente en una sola masa testicular principal con masas nodulares confluentes satélites. Este tumor se ha descrito en animales de laboratorio en las ratas Fischer 344 (Nyska et al., 1991). En el ART no existe engrosamiento de la túnica vaginal. Ambos tumores, ART y MTV, pueden tener patrones papilares y tubulares microscópicamente; sin embargo, el ART se localiza predominantemente dentro del rete testis, particularmente dentro del hilio, y el tumor es continuo con el epitelio rete testis. Además, los túbulos generalmente tienen un patrón en forma de hendidura en contraste con el mesotelioma maligno, que rara vez muestra este patrón. (Chekol & Sun, 2012) El MTV generalmente afecta la túnica vaginal de manera multifocal. Esto está en contraste con la masa única discreta del ART (Amin, 2005).

El adenocarcinoma del epidídimo (AE) es una proliferación glandular maligna de tamaño variable que se produce en el epidídimo. Muestra un patrón de crecimiento tubular, tubulopapilar o quístico, y está formado por células cuboidales o cúbicas, que a menudo contienen glucógeno citoplásmico (Bosschere et al., 2009). En algunos casos, estos tumores pueden confundirse con el MTV. Al hacer la distinción, las papilas en los MTV generalmente no son tan amplias y no

exhiben el mismo grado de brotación celular y estratificación que se observan típicamente en los AE (Chekol & Sun, 2012). Algunos AE tienen atipia de leve a moderada con baja actividad mitótica en contraste con el MTV (que fue alta en el 100% de los casos de este estudio). Se pueden apreciar células claras prominentes de patrón tubular en esta región (Amin, 2005).

Otro diagnóstico diferencial a considerar (más en medicina humana que en veterinaria) es el tumor adenomatoide (TAd), también es de origen mesotelial. TAd es una lesión benigna poco común, principalmente descrita sólo en humanos, que generalmente surgen en el tracto genital, excepcionalmente en el corazón, y generalmente representan un hallazgo incidental. Histológicamente, tiene una apariencia quística con túbulos y cordones de redondos a ovalados o en forma de hendidura. El origen mesotelial de estas lesiones se sugiere por sus características inmunohistoquímicas (citoqueratina y vimentina positivos). Los tumores adenomatoides testiculares nunca se han descrito en animales, pero se han observado lesiones similares en el corazón bovino y se han clasificado como inclusiones epiteliales del miocardio (Tursi et al. 2009). TAd, por lo general, se presenta como una masa unilateral que es relativamente más pequeña. Los túbulos o cordones están revestidos por células planas a columnares con cantidades moderadas de citoplasma eosinófilo o vacuolado. Por el contrario, los mesoteliomas malignos suelen ser más grandes y tienen un patrón de crecimiento difuso e infiltrativo. Además, la alta atipia citológica observada en el MTV (100% de los casos en este estudio) excede en gran medida la observada en el tumor adenomatoide (Chekol & Sun, 2012).

La tabla 7 resume las principales características clinicopatológicas diferenciales.

Diagnóstico diferencial clinicopatológico	
MTV	Múltiples crecimientos papilares o nódulos cubriendo la TV. Hidrocele. Invasión del estroma subyacente. Atipia.
HM	Efecto masa ausente; limitado a superficies serosas, no infiltrativo. Mínima atipia.
ART	No hay engrosamiento de TV. Centrado en la rete testis (hilio testicular).
AE	Células claras en un carcinoma de patrón tubular en esta región.
TAd	Circunscrito, oval en morfología. Doloroso, genera infartos. Apariencia quística, túbulos alargados. Agregados linfoides prominentes en la periferia. Mucina.

Tabla 7: Resumen del diagnóstico diferencial clinicopatológico para el MTV

Además de la ubicación y la morfología, la inmunohistoquímica es una buena herramienta para el diagnóstico diferencial del MTV de otras neoplasias (Tabla 8). Inmunohistoquímicamente, los MTV son generalmente negativos para los marcadores inmunohistoquímicos Ber-EP4, CEA y citoqueratina 20 (CK20), todos los cuales son típicamente positivos en el ART. De forma similar a los ART, los AE son frecuentemente positivos para los marcadores mencionados anteriormente, diferenciándolos del MTV (Ulbrigh et al., 1999).

La expresión del antígeno cancerígeno 125 (CA-125) se ha descrito como negativo en la mayoría de los AE y de los ART (Chekol & Sun, 2012) a diferencia de los MTV, en el que éste es positivo.

Además de las diferencias inmunohistoquímicas comentadas anteriormente, la positividad para los marcadores relacionados con el MTV, vimentina (VIM), calretinina (CAL), WT-1 y citoqueratinas, junto con la negatividad para los anticuerpos relacionados con ART y AE (CEA, CK20, Ber EP4) (Amin, 2005) son la clave para confirmar un diagnóstico diferencial de MTV.

Diagnóstico diferencial inmunohistoquímico												
	AE1/AE3	CAL	VIM	WT1	CA125	EMA	TBM	CK7	CK 5/6	CEA	CK20	BerEP4
MTV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
ART	+	+	+	-	-	+	+	+	?	+	+	+
AE	+	+	-	-	-	+	+	?	?	+	+	+

Tabla 8: Resumen del diagnóstico diferencial inmunohistoquímico para el MTV. (CAL = calretinina; WT1 = Wilms tumor antibody; Ca125 = cancer antigen 125; EMA = antígeno epitelial de membrana; TBM = trombomodulina; BerEP4 = anticuerpo contra molécula de adhesión celular epitelial)

Conclusiones

1. El mesotelioma de la túnica vaginal en el perro es una neoplasia maligna muy infrecuente, con un comportamiento agresivo y una evolución desfavorable.
2. El 100% de los tumores en nuestra serie involucraron el cordón espermático y la progresión fue rápida. Podemos destacar que la invasión del cordón espermático es un indicador importante del curso fatal de la enfermedad en perros.
3. La presentación clínica es básicamente unilateral; la bilateralidad es extremadamente rara.
4. El mesotelioma de la túnica vaginal debe considerarse cuando nos encontramos con hidroceles, ya que es una forma mayoritaria de presentación clínica.
5. Existen 3 tipos histológicos posibles en el perro: epiteliode (más común), sarcomatoide y mixto.
6. Papilar, tubulopapilar-adenoide (descritos anteriormente en el perro), micropapilar-difuso y sólido son los patrones de crecimiento histológico posibles en el perro.
7. La tinción inmunohistoquímica positiva para pancitoqueratina y vimentina conjuntamente con un resultado negativo a citoqueratina 20 y el antígeno carcinoembrionario representan el perfil inmunohistoquímico común y diferencial con otras neoplasias similares (Cks, Vim +/-CEA, CK20 -).

Bibliografía

- Amin, M.B., 2005. Selected other problematic testicular and paratesticular lesions: Rete testis neoplasms and pseudotumors, mesothelial lesions and secondary tumors. *Modern Pathology*, 18(SUPPL. 2).
- Aponte-Rueda, M.E. & Nieves, M., 2009. Mesotelioma papilar bien diferenciado. *Revista Venezolana de Oncología*, 21(4), pp.229–236.
- Arda, E. et al., 2017. Malignant Mesothelioma of Tunica Vaginalis Testis: Macroscopic and Microscopic Features of a Very Rare Malignancy. *Cureus*, 9(11), p.e1860.
- Bosschere, H. De et al., 2009. Epididymal carcinoma in a dog Epididymaal carcinoma bij een hond. , pp.440–442.
- Boyum, J. & Wasserman, N.F., 2008. Malignant mesothelioma of the tunica vaginalis testis: A case illustrating doppler color flow imaging and its potential for preoperative diagnosis. *Journal of Ultrasound in Medicine*, 27(8), pp.1249–1255.
- Brimo, F., Illei, P.B. & Epstein, J.I., 2010. Mesothelioma of the tunica vaginalis: A series of eight cases with uncertain malignant potential. *Modern Pathology*, 23(8), pp.1165–1172.
- Chekol, S.S. & Sun, C.C., 2012. Malignant mesothelioma of the tunica vaginalis testis: Diagnostic studies and differential. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 136(1), pp.113–117.
- Cihak, R.W., Roen, D.R. & Klaassen, J., 1986. Malignant mesothelioma of the tunica vaginalis in a dog. *Journal of Comparative Pathology*, 96(4), pp.459–462.
- García-López, M.D.P. & Barrera-Rodríguez, R., 2000. Mesotelioma maligno: Descripción clínica y radiológica de 45 casos con y sin exposición a asbestos. *Salud Publica de Mexico*, 42(6), pp.511–519.
- Gould, D.H., 1977. Mesotheliomas of the Tunica Vaginalis Propria and Peritoneum in Fischer Rats. *Vet. Pathol*, 14, pp.372–379.
- König, Horst Erich, and Hans-Georg Liebich. *Anatomía de los animales domésticos: texto y atlas en color*. Vol. 2. Ed. Médica Panamericana, 2005.
- Martínez, E.. & Torrent, E., 2006. Mesotelioma peritoneal en una perra. dificultades en el diagnóstico y opciones de tratamiento. *A.V.E.P.A*, 26, p.2006.
- Moran, A.K. & Moore, D.B., 2001. Malignant Mesothelioma and Mesothelial Hyperplasia of the Tunica Vaginalis Testis of a Dog - Case Report. , 7(2), pp.87–89.
- Nyska, A. et al., 1991. Spontaneous rete testis adenocarcinoma in a Fischer 344 rat: a cytomorphological and ultrastructural study. *Journal of Comparative Pathology*, 104(4), pp.449–454.
- Ochoa, J. & Hernández Arevalo, G., 2008. Mesotelioma Invasivo de un Canino: Citología, Clínica y Hallazgos Patológicos. *International Journal of Morphology*, 26.
- Plas, E., Riedl, C.R. & Pflueger, H., 1998. Malignant mesothelioma of the tunica vaginalis testis:

Características clinicopatológicas e inmunohistoquímicas de los Mesoteliomas de túnica vaginal testicular en perros (1995-2017)

- Review of the literature and assessment of prognostic parameters. *Cancer*, 83(12), pp.2437–2446.
- Reggeti, F., et al. "Invasive epithelial mesothelioma in a dog." *Veterinary pathology* 42.1 (2005): 77-81.
- Son, N. V. et al., 2018. Sarcomatoid mesothelioma of tunica vaginalis testis in the right scrotum of a dog. *Journal of Veterinary Medical Science*, 80(7), pp.1125–1128.
- Sutton, R. H. "Mesothelioma in the tunica vaginalis of a bull." *Journal of comparative pathology* 99.1 (1988): 77-82.
- Tursi, M. et al., 2009. Myocardial adenomatoid tumor in eight cattle: Evidence for mesothelial origin of bovine myocardial epithelial inclusions. *Veterinary Pathology*, 46(5), pp.897–903.
- Ulbright TM, Amin MB, Young RH. Tumors of the Testis, Adnexa, Spermatic Cord, and Scrotum, 3rd Series, Fascicle 25. Armed Forces Institute of Pathology: Washington, DC, 1999.
- Vascellari, M. et al., 2011. Malignant mesothelioma of the tunica vaginalis testis in a dog: Histological and immunohistochemical characterization. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 23(1), pp.135–139.
- Vural, S.A., Ozyildiz, Z. & Ozsoy, S.Y., 2006. Pleural mesothelioma in a nine- month-old dog. , 60(1), pp.30–33.
- Winstanley, Alison M., et al. "The immunohistochemical profile of malignant mesotheliomas of the tunica vaginalis: a study of 20 cases." *The American journal of surgical pathology* 30.1 (2006): 1-6.
- Yamada, N. et al., 2013. Bacterial Pleuritis with Thickened Mesothelial Hyperplasia in a Young Beagle Dog. *Journal of Toxicologic Pathology*, 26(3), pp.313–317.
- Yen, C.H. et al., 2012. Malignant mesothelioma of the tunica vaginalis testis: a malignancy associated with recurrent epididymitis? *World Journal of Surgical Oncology*, 10(1), p.1.